

# ActiPro 培地および Cell Boost サプリメント： CHO 細胞培養におけるスケーラビリティ、 タンパク質産生

Jeremy E. Tigh, Cory Card, Linda Clare, Charles P. Harding, Rena Baktur, and Mark E. Wight  
HyClone Laboratories Inc., 925 W 1800 S, Logan, UT 84321, USA

## 要約

本報では、生細胞密度、タンパク質産生の両方に関する HyClone ActiPro 培地および Cell Boost サプリメントの性能について、複数のチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞株を用いて確認しました。比較対象として、振とうフラスコ培養用に一般的に市販されている CHO 細胞培地およびサプリメントを用いました。さらに、50 L バイオリアクタースケールまでの ActiPro 培地および Cell Boost サプリメントのスケーラビリティも確認し、複数の CHO 細胞株に対して標準的なフィード添加量が利用可能であることを示します。

## はじめに

バイオプロセス産業においてもっとも広く使用されている細胞株は、CHO 細胞に由来します。そのため、細胞培養培地を選択する際には、複数の CHO 細胞株に対して高い生細胞数および生産性をサポートするものを使用することが重要です。CHO 細胞株に最適な性能を発揮させるためには、正確な栄養バランス組成が必須です。ActiPro 培地およびフィード用サプリメントの配合は、1 mL あたり 2,500 万以上の生細胞数、かつ 1 L あたり 5 g を超えるタンパク質産生をサポートするように調製されています。振とうフラスコから 50 L バイオリアクター培養まで対応でき、また複数の CHO 細胞株において高い生細胞密度と生産性をサポート可能な ActiPro 培地および Cell Boost サプリメントは、汎用性があると同時にスケーラビリティがあることを示しています。

## 材料と方法

### 振とうフラスコ培養

独自の CHO 細胞株 CHO-S (Mab 産生細胞)、DG44 (Mab 産生細胞)、DG44 (組換えタンパク質産生細胞) を、標準プロトコールにしたがって凍結保存から融解し、3 日または 4 日ごとに継代培養しました。一度細胞を回収したのちに、ActiPro と他の市販の培地に播種しました (表 1)。注意：DG44 (Mab 産生細胞) では、条件 C は利用できませんでした。各培地のタイプに対して、少なくとも 3 回の馴化継代を行いました。馴化後、30 mL の培地中でフェドバッチ培養するために振とうフラスコに細胞を播種し、各フィード用サプリメントは培地メーカーの指示にしたがって補充しました。各培地で 2 回フェドバッチ培養を実施しました。播種密度は、 $0.5 \times 10^6$  cells/mL でした。結果のグラフ上のエラーバーは  $\pm 1$  標準偏差を表します。

表 1. ベース培地およびフィード用サプリメント

| Condition | Medium   |
|-----------|--|
| A         | ActiPro + Cell Boost 7a and 7b                                     |
| B         | Dynamis + EfficientFeed C + AGT (Thermo Fisher Scientific)         |
| C         | EX-CELL Advanced CHO + EX-CELL Advanced CHO Feed 1 (Sigma-Aldrich) |
| D         | CD FortiCHO + EfficientFeed C + AGT (Thermo Fisher Scientific)     |
| E         | CD OptiCHO + EfficientFeed A (Thermo Fisher Scientific)            |
| F         | BalanCD CHO Growth A + BalanCD CHO Feed 1 (Irvine Scientific)      |

### 2 L のバイオリアクター培養

CHO-S (Mab 産生細胞)、DG44 (Mab 産生細胞)、DG44 (組換えタンパク質産生細胞) 細胞株を、2 L のバイオリアクター (Applikon Biotechnology) で培養しました。開始容量 2 L の ActiPro に  $0.5 \times 10^6$  cells/mL 播種しました。3 日目からは、各培養液に対して、リアクター容量の 3% の Cell Boost 7a、0.3% の Cell Boost 7b、グルコースを 3 g/L に維持するようグルコース溶液を供給しました。グルコースの測定には、BioProfile Flex アナライザー (Nova Biomedical) を用いました。これらの培養は、連続培養 (ケモスタット法) を用いて培養量を 2 L に維持しました。すなわち、毎日フィード用サプリメント供給前に液量が 2 L になるまで排出しました。必要に応じて Antifoam C (Sigma-Aldrich) を加え、泡立ちを最小限に抑えました。

### 50 L のバイオリアクター培養

タンパク質が高レベルで産生されることから、50 L の Xcellerex バイオリアクターでの培養には、DG44 (Mab 産生細胞) 細胞株を選択しました。開始容量 25 L の ActiPro 培地に  $0.5 \times 10^6$  cells/mL 播種しました。3 日目からは、各培養液に対して、培養液量の 3% の Cell Boost 7a、0.3% の Cell Boost 7b、グルコースを 5 g/L に維持するようグルコース溶液を供給しました。必要に応じて Antifoam C を加え、泡立ちを最小限に抑えました。

## 結果

振とうフラスコ培養では、すべての ActiPro 培養は、評価したすべての細胞株において、一貫して  $20 \times 10^6$  cells/mL を超える生細胞密度に達しました (図 1~3)。生細胞密度とタンパク質産生との間には強い相関がありました。ActiPro 培地および Cell Boost サプリメントで培養した細胞は、他の培地で培養した細胞よりも高いタンパク質力価を示しました (図 4~6)。比較に使用された細胞株のうち 2 つが Mab を産生し、1 つが独自の組換えタンパク質を産生しました。このことは、ActiPro 培地および Cell Boost サプリメントが、さまざまなタンパク質産生システムにおいてタンパク質の大量産生をサポートできることを示しています。CHO 細胞株は、すべての ActiPro による培養において同等の増殖および生産性を示しました。

CHO 細胞株のスケーラビリティについては、DG44 (Mab 産生細胞) 細胞株を用い、2 L と 50 L バイオリアクター培養で確認しました。すべての細胞株において、培養スケールに関わらず同等の生細胞密度およびタンパク質産生を示しました (図 7~10)。細胞増殖の対数期における急速な増殖をサポートする十分な栄養を供給するために、各細胞株に対する 3% の Cell Boost 7a と 0.3% の Cell Boost 7b の標準添加量を最適化することで、増殖および産生をさらに増強することができました。

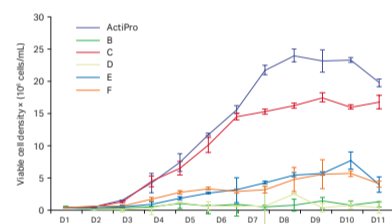


図2. DG44 (recombinant protein producer) cell growth.

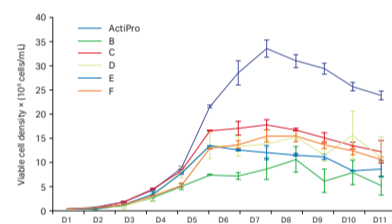


図3. CHO-S (Mab producer) cell growth.

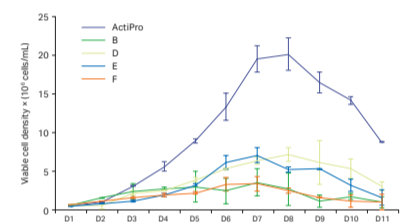


図1. DG44 (Mab producer) cell growth.

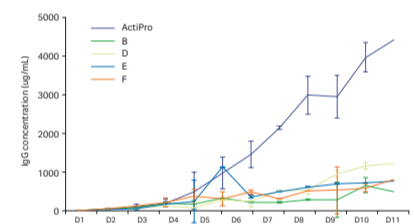


図4. DG44 (Mab producer) productivity.

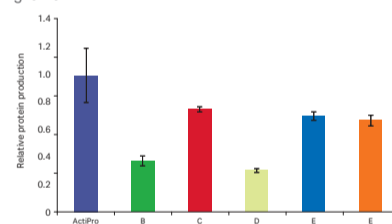


図5. DG44 (recombinant protein producer) productivity (day 10).

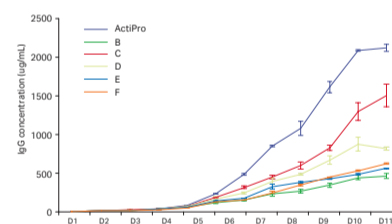


図6. CHO-S (Mab producer) productivity.

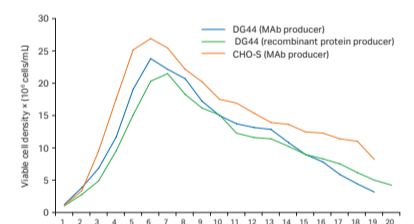


図7. Cell growth in 2 L ActiPro fed-batch bioreactor cultures.

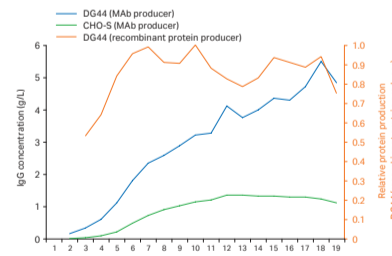


図8. Productivity in 2 L ActiPro fed-batch bioreactor cultures.

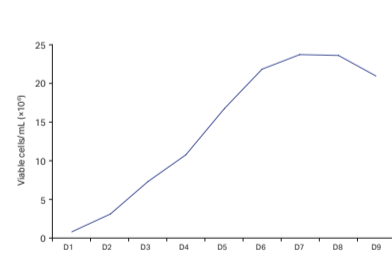


図9. DG44 cell growth in 50 L ActiPro bioreactor cultures.

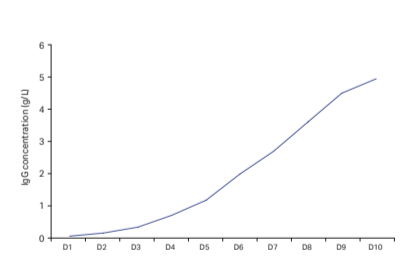


図10. DG44 cell productivity in 50 L ActiPro bioreactor cultures.

## 結論

選択された CHO 細胞株について、ActiPro 培地および Cell Boost サプリメントは、本報で使用した一般に市販されている他の培地、サプリメントと比較して、より高い生細胞密度およびタンパク質産生をサポートします。ActiPro 培地と Cell Boost サプリメントは、ベンチトップから製造用バイオリアクター培養まで対応するため、容易なスケールアップを実現します。

※記載されている所属は、執筆/取材当時のものです。

Cytiva (サイティバ)

グローバルライフサイエンステクノロジー株式会社  
〒169-0073  
東京都新宿区百人町3-25-1 サンケンビルディング  
お問合せ: バイオダイレクトライン  
TEL: 03-5331-9336 FAX: 03-5331-9370  
e-mail: Tech-JP@cytiva.com



Intertek  
ISO 9001:2015  
認証取得

掲載されている内容および価格は 2019 年 2 月現在のものです。価格は希望小売価格 (消費税は含まれておりません) であり、単なる参考価格のため、弊社販売代理店が自主的に設定する販売価格を何ら拘束するものではありません。掲載されている製品は試験研究用以外には使用しないでください。掲載されている内容は予告なく変更される場合がありますのであらかじめご了承ください。掲載されている社名や製品名は、各社の商標または登録商標です。お問合せに際してお客さまよりいただいた情報は、お客さまへの回答、弊社サービスの向上、弊社からのご連絡のために利用させていただく場合があります。